



Л.Д. Игнатова ,  
В.В. Тихонова ,  
О.Ю. Стрелова

## Разработка ВЭЖХ-методики идентификации и количественного определения субстанции генистеина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный  
химико-фармацевтический университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
ул. Профессора Попова, д. 14, литера А, Санкт-Петербург, 197022,  
Российская Федерация

Игнатова Лада Дмитриевна; [lada.ignatova@spcpu.ru](mailto:lada.ignatova@spcpu.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Генистеин (5,7-дигидрокси-3-(4-гидроксифенил)хромен-4-он) – полифенольное соединение, обладающее выраженной антиоксидантной активностью и низкой токсичностью. Генистеин может быть применен для профилактики и лечения радиационных поражений при химиотерапии. Однако включение в терапевтические схемы в качестве противорадиационного средства возможно только после его регистрации в качестве лекарственного средства. Для этого необходимо в том числе разработать методики оценки содержания генистеина, соответствующие фармакопейным требованиям к аналитическим методикам.

**ЦЕЛЬ.** Разработка методики идентификации и количественного определения потенциально активной фармацевтической субстанции генистеина методом высокоеффективной жидкостной хроматографии.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Образцы фармацевтической субстанции генистеина, синтезированные в ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, проанализированы с помощью системы высокоеффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД) Prominence LC-20 Shimadzu. Температура в отсеке для колонки – 40 °C, объем инъекции – 100 мкл, длина волны детекции – 261 нм, колонка Shimadzu C18 (4,6 мм×250 см, размер частиц 5 мкм).

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Разработана методика качественного и количественного определения генистеина методом ВЭЖХ-ДМД, подвижная фаза ацетонитрил:вода очищенная (75:25 об.:об., скорость потока – 0,7 мл/мин). Проведена оценка пригодности разработанной системы. Методика валидирована по показателям: специфичность, линейность (0,001–0,01%;  $r=0,997$ ), правильность ( $RSD=1,26\%$ ), воспроизводимость ( $RSD=0,43\%$ ), внутридневная прецизионность ( $RSD<2\%$ ) и робастность.

**ВЫВОДЫ.** Разработанная методика качественного и количественного определения генистеина методом ВЭЖХ-ДМД соответствует фармакопейным требованиям к аналитическим методикам и может быть предложена для включения в проект фармакопейной статьи «Генистеин».

**Ключевые слова:** генистеин; антиоксидант; радиопротектор; идентификация; количественное определение; валидация; высокоэффективная жидкостная хроматография; методика определения; фармакопейная статья

**Для цитирования:** Игнатова Л.Д., Тихонова В.В., Стрелова О.Ю. Разработка ВЭЖХ-методики идентификации и количественного определения субстанции генистеина. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2025;15(6):664–671. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-6-664-671>

**Финансирование.** Работа выполнялась без спонсорской поддержки.

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Lada D. Ignatova ,  
Viktoria V. Tihonova ,  
Olga Yu. Strelova 

## Development of HPLC Method for Identification and Quantification of Genistein Substance

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University,  
14A Professor Popov St., St. Petersburg 197022, Russian Federation

 Lada D. Ignatova; [lada.ignatova@spcpu.ru](mailto:lada.ignatova@spcpu.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** Genistein (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromene-4-on) is a low-toxic polyphenolic compound with significant antioxidant activity. Genistein in combination with chemoradiotherapy can prevent and reduce radiation damage. However, in order to be included in the prevention and treatment regimens of radiation injuries, genistein should be authorised as a medicinal product. This warrants assessment methods of genistein content that would meet pharmacopoeial requirements for analytical methods.

**AIM.** This study aimed to develop a method of high performance liquid chromatography (HPLC) for identification and quantitation of the potential active pharmaceutical substance genistein.

**MATERIALS AND METHODS.** Samples of active pharmaceutical substance genistein were synthesised in St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. All samples were analysed using Prominence LC-20 Shimadzu HPLC system with diode array detection (Japan). The temperature in the column compartment was 40 °C, the injection volume 100 µL, the detection wavelength 261 nm. A Shimadzu C18 column (4.6 mm×250 cm, 5 µm particle size) was selected for analysis.

**RESULTS.** A method was developed for identification and quantitation of a potentially active pharmaceutical substance by HPLC with diode array detection using a mixture of acetonitrile and purified water (75:25 v.:v) as a mobile phase. The flow rate was 0.7 mL/min and the column temperature 40 °C. Applicability of the developed system was evaluated. During optimisation of the conditions, the flow rate of the mobile phase was set to 0.7 mL/min. The suitability of the developed system was evaluated. The method was validated according to the following parameters: specificity, linearity (0.001–0.01%;  $r=0.997$ ), correctness (RSD% = 1.26), reproducibility (RSD% = 0.43), intraday precision (RSD% < 2), and robustness.

**CONCLUSIONS.** The developed method of genistein identification and quantitation by HPLC with diode array detection meets pharmacopoeial requirements for analytical methods and can be proposed for inclusion in the draft pharmacopoeial monograph “Genistein”.

**Keywords:** genistein; antioxidant; radioprotector; identification; quantification; validation; high performance liquid chromatography; identification; pharmacopoeial monograph

**For citation:** Ignatova L.D., Tihonova V.V., Strelova O.Yu. Development of HPLC method for identification and quantification of genistein substance. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2025;15(6):664–671. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-6-664-671>

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

### ВВЕДЕНИЕ

В схемы лечения немелкоклеточного рака легких на поздних стадиях включают лучевую терапию, применение которой часто сопряжено с развитием осложнений [1–3]. Существующие радиозащитные препараты характеризуются высокой токсичностью с риском развития тяжелых нежелательных реакций, коротким сроком фармакологического действия и недостаточной эффективностью. В связи с этим актуальной задачей радиобио-

логии является поиск новых биологически активных молекул, обладающих радиопротекторными свойствами [4–9].

В патогенезе лучевой болезни важную роль играет состояние оксидативного стресса, так как воздействие ионизирующего излучения на организм приводит к снижению количества естественных антиоксидантов в тканях организма. В связи с этим для коррекции лучевого синдрома могут быть использованы экзогенные антиоксиданты [1, 9–10]. Генистеин

(5,7-дигидрокси-3-(4-гидроксифенил)хромен-4-он относится к группе полифенольных соединений, проявляющих выраженную антиоксидантную и радиопротекторную активность [11-13]. Основываясь на механизме действия [12], можно предположить, что генистеин снижает экспрессию провоспалительных и профibrотических медиаторов, вызванных воздействием ионизирующего излучения. Результатом включения генистеина в схему радиотерапии может быть снижение частоты возникновения радиационно-индукционного пневмонита и фиброза [12, 14].

Низкая растворимость генистеина в воде может быть одной из причин нелинейного фармакокинетического поведения генистеина и объясняет, почему увеличение дозы не улучшает его биодоступность за счет насыщения метаболических ферментов [15]. Для решения проблем, обусловленных низкой растворимостью действующего вещества, гидрофобные лекарственные средства могут производиться в виде дисперсии аморфных твердых веществ в матрице-носителе. Такой подход повышает растворимость лекарственного препарата в физиологических средах за счет разрушения кристаллической решетки и минимизации энергии, необходимой для его растворения [16].

Для включения генистеина в схемы профилактики и лечения радиационных поражений необходимо разработать проект фармакопейной статьи «Генистеин», содержащий перечень показателей качества и нормируемых значений, что обеспечит соответствующий уровень оценки качества данной фармацевтической субстанции.

В Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) была разработана схема синтеза генистеина, позволяющая получать достаточно большое количество субстанции [17], а также методики фармакопейного анализа для оценки подлинности и количественного содержания потенциально активной фармацевтической субстанции генистеина [18, 19]. Для количественного определения генистеина была предложена методика неводного титрования в среде диметилформамида с потенциометрическим контролем конечной точки титрования [19]. Однако неводное титрование не обеспечивает достаточную специфичность при количественной оценке активных фармацевтических субстанций в многокомпонентных смесях (например, в твердых дисперсиях). Для дальнейших контролируемых исследований по введению генистеина в состав таких смесей

необходима разработка более специфичной методики количественного определения генистеина, обеспечивающей селективность анализа.

В литературе представлено большое количество методик высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД) для идентификации и количественного определения генистеина в составе растительных экстрактов (см., например, [20-22]). Описанные условия хроматографирования [20-22] позволяют разделять компоненты смеси и проводить одновременное детектирование компонентов во всем спектральном диапазоне, что увеличивает длительность анализа (~1 ч). Разработка экспрессной методики ВЭЖХ-ДМД для анализа генистеина позволит автоматизировать рутинный контроль качества и обеспечить высокую точность, селективность и высокую скорость исследования.

Цель работы – разработка методики идентификации и количественного определения потенциально активной фармацевтической субстанции генистеина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Оборудование

Исследование проводилось с помощью системы ВЭЖХ Prominence LC-20 Shimadzu (Япония) с детектором ультрафиолетового и видимого света. Температура в отсеке для колонки составляла 40 °C, объем инъекции 100 мкл, длина волны детекции 261 нм, колонка Shimadzu C18 (4,6 мм×250 см, размер частиц 5 мкм).

### Материалы

Реактивы, использованные в исследовании: вода очищенная, деионизированная, ацетонитрил (HPLC-gradient grade, J.T. Baker), кислота муравьиная 98,0-100% (Acros Organics, кат. № AC27048-0010). Генистеин был синтезирован на базе НОЦ ХТОС ФГБОУ ВО СПХФУ по «дезоксибензоиновой схеме» с использованием в качестве циклизующего агента смешанного муравьино-уксусного ангидрида [17]. В качестве стандартного образца использовали дважды перекристаллизованную из спирта этилового субстанцию, на хроматограмме ВЭЖХ-МС/МС которой отсутствовали сигналы, не относящиеся к молекуле генистеина. Подтверждение структуры субстанции генистеина проводили с применением методов ИК-, ЯМР-спектрометрии. Субстанция была оценена по показателям «Подлинность», «Чистота», «Количественное определение».

## Методы

Методика приготовления 0,005% стандартного и рабочего растворов генистеина: ~0,0250 г (точная навеска) субстанции помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, объем раствора доводили до метки ацетонитрилом. Растворяли на ультразвуковой бане Stegler 3DT 10 мин при температуре 25 °C, 0,5 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл, объем раствора доводили до метки тем же растворителем, перемешивали.

Для приготовления подвижной фазы в мерной колбе вместимостью 1000 мл смешивали 750 мл ацетонитрила с 250 мл воды деионизированной (75:25 об.:об.). Подвижные фазы с другим соотношением компонентов готовили аналогично. Далее полученную смесь фильтровали с помощью установки для вакуумной фильтрации LabTech VP30.

Разработанная методика ВЭЖХ-ДМД для идентификации и количественного определения генистеина была валидирована по параметрам: специфичность, линейность, точность, прецизионность, правильность и устойчивость в соответствии с нормативными документами<sup>1</sup>.

Подтверждение специфичности валидируемой методики ВЭЖХ-ДМД для оценки генистеина по показателю «Подлинность» проводили путем регистрации хроматограмм: 0,005% стандартного раствора генистеина и 0,005% рабочего раствора генистеина. Специфичность методики ВЭЖХ-ДМД для оценки генистеина по показателю «Количественное определение» подтверждалась дополнительно путем регистрации хроматограммы холостого раствора и сравнения с хроматограммой 0,005% стандартного раствора генистеина.

Для определения линейности путем последовательного разведения были приготовлены пять стандартных растворов с различными концентрациями в диапазоне 20–150% от концентрации рабочего раствора генистеина. Концентрацию генистеина рассчитывали по градуировочному графику с помощью Microsoft Office Excel 2010.

Правильность методики оценивали путем сравнения открываемости при 80, 100 и 120% содержания генистеина от концентрации рабочего раствора (в трехкратной повторности на каждом

уровне). Также рассчитывали относительное стандартное отклонение (%RSD).

Для оценки внутридневной прецизионности в один и тот же день был проведен анализ для трех уровней концентрации генистеина (80, 100, 120% от концентрации рабочего раствора) по три повторения ( $n=3$ ), для оценки междневной точности образцы анализировали аналогично в течение трех дней подряд. В ходе анализа регистрировали площадь пика с последующим расчетом %RSD.

Для демонстрации стабильности методики были целенаправленно изменены параметры хроматографической системы, в том числе состав подвижной фазы (содержание ацетонитрила  $\pm 10\%$ ), температура колонки ( $\pm 3$  °C (37 и 43 °C)), скорость потока ( $\pm 10\%$  (0,6 и 0,8 мл/мин)), длина волны детекции ( $\pm 2$  нм (259, 263 нм)).

Полученные экспериментальные данные обрабатывали согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации<sup>2</sup>.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным литературы для идентификации, разделения и определения flavоноидов применяют обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ [20–22]. В качестве коммерчески доступных неподвижных фаз чаще всего используют силикагели с привитыми алкильными радикалами, как правило, C18. Колонка C18 менее полярна, чем другие применяемые в ВЭЖХ колонки (например, C4 и C8), ее рекомендуется использовать для разделения полярных и неполярных соединений, ускорения элюирования последних. Авторы [20–22] в качестве неполярной фазы рекомендуют использовать ацетонитрил, в качестве полярной фазы – воду очищенную или 0,1% раствор муравьиной кислоты. Выбранная для детектирования длина волны поглощения 261 $\pm$ 2 нм соответствует максимуму поглощения генистеина [23, 24]. Изократический режим подачи элюента был выбран из-за простоты применения, а также достаточной селективности и эффективности разделения.

Для повышения эффективности и улучшения хроматографических характеристик пика были оптимизированы содержание органического растворителя (ацетонитрила) в подвижной фазе и скорость потока (рис. 1, табл. 1); установлены

<sup>1</sup> ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.: 2023. Решение коллегии ЕЭК от 17.07.2018 № 113 «Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств».

<sup>2</sup> ОФС.1.1.0013 Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

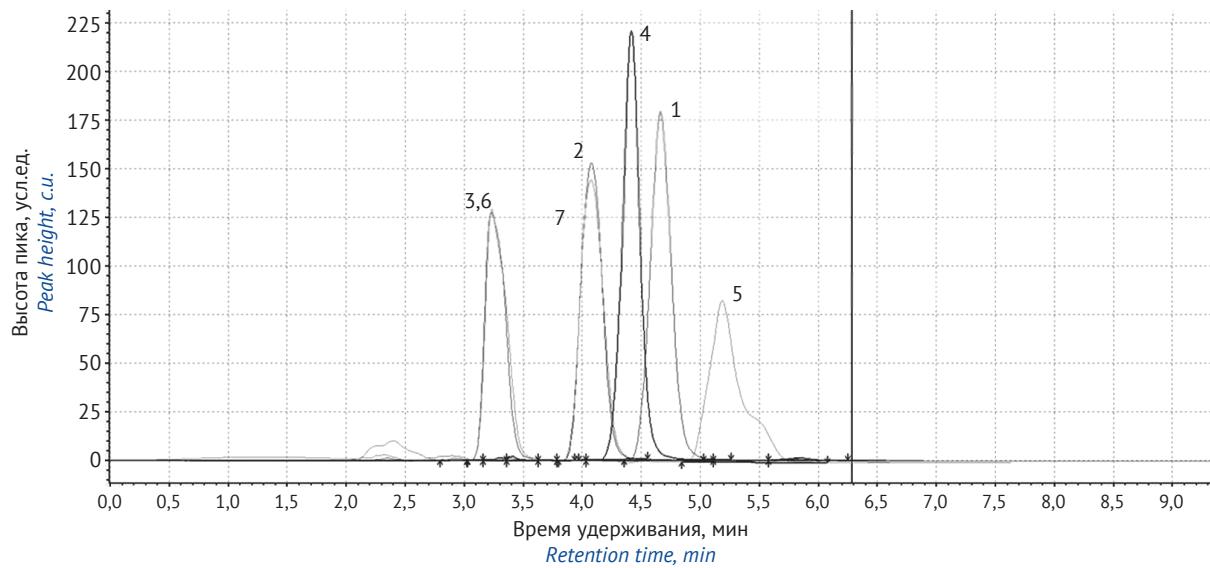


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 1. Хроматограммы 0,005% раствора генистеина при различном соотношении и составе подвижных фаз (табл. 1)**

**Fig. 1. Chromatograms of 0.005% genistein solution, with changing ratio and composition of the mobile phases (Table 1)**

оптимальные условия хроматографирования: подвижная фаза – ацетонитрил:вода деионизированная (75:25 об.:об.), скорость потока

0,7 мл/мин, температура 40 °С. Уменьшение pH (введение в раствор муравьиной кислоты) практически не повлияло на вид хроматограммы.

**Таблица 1. Условия хроматографирования 0,005% раствора генистеина при оптимизации хроматографической системы**

**Table 1. Chromatographic conditions of 0.005% genistein solution during optimisation of the chromatographic system**

№	Состав подвижной фазы <i>Mobile phase composition</i>	Скорость потока, мл/мин <i>Flow rate, mL/min</i>	Время удерживания генистеина, $t_R$ , мин <i>Genistein retention time, <math>t_R</math>, min</i>	Фактор асимметрии пика, $A_s$ <i>Tailing factor of chromatographic peak, <math>A_s</math></i>	Число теоретических тарелок <i>Number of plates</i>
1	Ацетонитрил:вода деионизированная 70:30 об.:об. <i>Acetonitrile : deionised water 70:30 v.:v.</i>	0,7	~4,7	1,08	2966
2	Ацетонитрил:вода деионизированная 70:30 об.:об. <i>Acetonitrile : deionised water 70:30 v.:v.</i>	0,8	~4,1	1,09	2262
3	Ацетонитрил:вода деионизированная 70:30 об.:об. <i>Acetonitrile : deionised water, 70:30 v.:v.</i>	1,0	~3,2	1,45	1681
4	Ацетонитрил:вода деионизированная 75:25 об.:об. <i>Acetonitrile : deionised water, 70:30 v.:v.</i>	0,7	~4,4	1,02	6664
5	Ацетонитрил:0,1% раствор муравьиной кислоты 50:50 об.:об. <i>Acetonitrile : 0.1% formic acid solution, 50:50 v.:v.</i>	1,0	~5,2	1,50	2114
6	Ацетонитрил:0,1% раствор муравьиной кислоты 70:30 об.:об. <i>Acetonitrile : 0.1% formic acid solution, 70:30 v.:v.</i>	1	~3,2	1,51	1434
7	Ацетонитрил:0,1% раствор муравьиной кислоты 70:30 об.:об. <i>Acetonitrile : 0.1% formic acid solution, 70:30 v.:v.</i>	0,8	~4,1	1,13	1976

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Контроль пригодности хроматографической системы проводили путем оценки относительного стандартного отклонения времени удерживания ( $\%RSD=0,013$ ), относительного стандартного отклонения площади пика ( $\%RSD=0,001$ ), числа теоретических тарелок (ЧТТ=6664) и фактора асимметрии ( $A_S=1,01$ ). По результатам контроля хроматографическая система считается пригодной для анализа, так как все оцениваемые показатели соответствуют критериям приемлемости<sup>3</sup>.

Критерий приемлемости при оценке специфичности методики для испытания «Подлинность» – равенство времен удерживания генистеина при анализе стандартного и испытуемого образцов (~4,4 мин) – соблюдается (рис. 2). На хроматограмме холостого раствора отсутствуют посторонние пики в сравнении с хроматограммой раствора стандартного образца генистеина, что позволяет утверждать, что разработанная методика является специфичной. Методика валидна по показателю линейность в диапазоне концентраций генистеина 0,001–0,01%, коэффициент корреляции уравнения регрессии зависимости хроматографического пика от концентрации генистеина  $r=0,997$  отвечает условию  $|r|>0,99$ <sup>4</sup>.

Для оценки правильности методики были рассчитаны среднее значение открываемости и относительное стандартное отклонение для каждого уровня концентрации (табл. 2 «Результаты оценки правильности ВЭЖХ-методики идентификации и количественной оценки субстанции

генистеина». Опубликована на сайте журнала<sup>5</sup>). Полученные данные свидетельствуют о том, что данная методика соответствует фармакопейным требованиям<sup>6</sup> по показателю «Правильность».

Повторяемость была оценена на одном уровне концентрации генистеина (0,05 мг/мл) в 6 повторностях (табл. 3 «Результаты оценки повторяемости ВЭЖХ-методики идентификации и количественной оценки субстанции генистеина». Опубликована на сайте журнала<sup>7</sup>). Относительное стандартное отклонение ( $\%RSD$ ) количественного определения составляет 0,43, что удовлетворяет фармакопейным требованиям ( $\%RSD<1$ )<sup>8</sup>.

Для оценки прецизионности методики ВЭЖХ-ДМД были рассчитаны относительные стандартные отклонения площади пика при междневном (0,33–0,67) и внутридневном (0,57–0,87) анализе, что удовлетворяет критериям приемлемости  $<2\%$ <sup>9</sup> и свидетельствует о валидности по показателю «Прецизионность».

Результаты оценки устойчивости разработанной методики ВЭЖХ-ДМД представлены в таблице 4 «Результаты оценки робастности ВЭЖХ-методики идентификации и количественной оценки субстанции генистеина» (опубликована на сайте журнала<sup>10</sup>). Время удерживания, фактор асимметрии и эффективность оставались стабильными при всех измененных условиях проведения анализа, следовательно, валидируемая методика ВЭЖХ-ДМД является робастной.

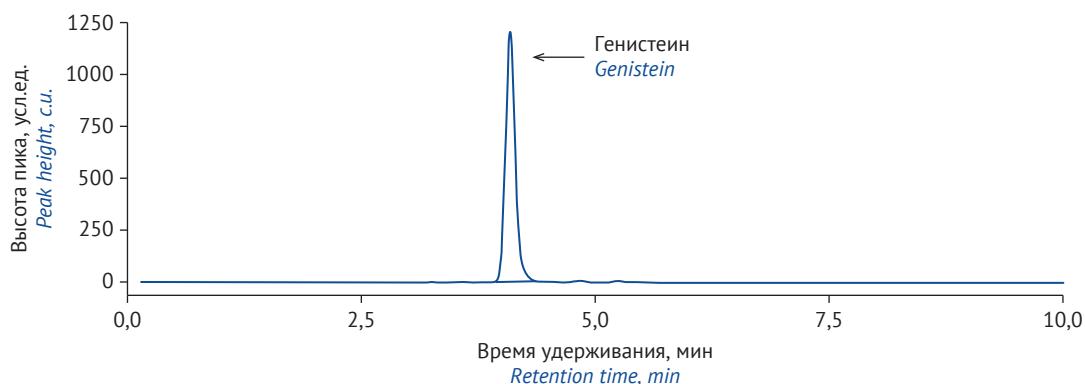


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 2.** Хроматограмма 0,005% раствора генистеина

**Fig. 2.** Chromatogram of 0.005% genistein solution

<sup>3</sup> ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>4</sup> Там же.

<sup>5</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-6-664-671-annex>

<sup>6</sup> ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>7</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-6-664-671-annex>

<sup>8</sup> ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

<sup>9</sup> Там же.

<sup>10</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-6-664-671-annex>

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования была разработана, оптимизирована и валидирована методика идентификации и количественного определения потенциально активной субстанции генистеина методом ВЭЖХ-ДМД. Установлено, что разработанная методика соответствует критериям приемлемости по показателям: специфичность, линейность (в диапазоне концентраций генистеина 0,001–0,01%), правильность, воспроизводимость, прецизионность, робастность.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Шаймуратов РИ. Радиационно-индуцированные поражения легких. Современное состояние проблемы. *Вестник современной клинической медицины*. 2020;13(3):63–73. Shaymuratov RI. Radiation-induced lung injury. A review. *Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2020;13(3):63–73 (In Russ.). EDN: [BIZZHU](#)
2. Wang S, Xu D, Xiao L, et al. Radiation-induced lung injury: from mechanism to prognosis and drug therapy. *Radiat Oncol*. 2025;20(1):39. <https://doi.org/10.1186/s13014-025-02617-8>
3. Гладилина ИА, Шабанов МА, Кравец ОА и др. Постлучевые повреждения легких. *Онкологический журнал: Лучевая диагностика, лучевая терапия*. 2020;3(2):9–18. Gladilina IA, Shabanov MA, Kravets OA, et al. Radiation-induced lung injury. *Journal of Oncology: Diagnostic Radiology and Radiotherapy*. 2020;3(2):9–18 (In Russ.). <https://doi.org/10.37174/2587-7593-2020-3-2-9-18>
4. Citrin DE. Radiation modifiers. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019;33(6):1041–55. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2019.08.004>
5. Рождественский ЛМ. Проблемы разработки отечественных противолучевых средств в кризисный период: поиск актуальных направлений развития. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2020;60(3):279–90. Rozhdestvensky LM. Difficulties in radiation counter measure preparations development in Russia in crisis period: Actual approaches searching. *Radiation Biology. Radioecology*. 2020;60(3):279–90 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S086980312003011X>
6. Shivappa P, Bernhardt GV. Natural radioprotectors on current and future perspectives: A mini-review. *J Pharm Bioallied Sci*. 2022;14(2):57–71. [https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs\\_502\\_21](https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_502_21)
7. Stasiłowicz-Krzemień A, Gościńiak A, Formanowicz D, et al. Natural guardians: Natural compounds as radioprotectors in cancer therapy. *Int J Mol Sci*. 2024;25(13):6937. <https://doi.org/10.3390/ijms25136937>
8. Lin Y, Chen X, Yu C, et al. Radiotherapy-mediated redox homeostasis-controllable nanomedicine for enhanced ferroptosis sensitivity in tumor therapy. *Acta Biomater*. 2023;159:300–11. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.01.022>
9. Raj S, Manchanda R, Bhandari M, et al. Review on natural bioactive products as radioprotective therapeutics: Present and past perspective. *Curr Pharm Biotechnol*. 2022;23(14):1721–38. <https://doi.org/10.2174/138920102366220110104645>
10. Montazersaheb S, Jafari S, Aytemir MD, et al. The synergistic effects of betanin and radiotherapy in a prostate cancer cell line. *Mol Biol Rep*. 2023;50(11):9307–14. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08828-0>
11. Гребенюк АН, Башарин ВА, Тарумов РА и др. Оценка антиоксидантных свойств отечественного синтетического генистеина на моделях *in vitro* и *in vivo*. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2013;(2):83–7. Grebenyuk AN, Basharin VA, Tarumov RA, et al. Estimation of antioxidant properties of domestic synthetic genistein in the models *in vitro* and *in vivo*. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2013;(2):83–7 (In Russ.). EDN: [RAETOP](#)
12. Serebrenik AA, Fatanmi OO, Wise SY, et al. BIO 300 attenuates whole blood transcriptome changes in mice exposed to total-body radiation. *Int J Mol Sci*. 2024;25(16):8818. <https://doi.org/10.3390/ijms25168818>
13. Jomova K, Alomar SY, Valko R, et al. Flavonoids and their role in oxidative stress, inflammation, and human diseases. *Chem Biol Interact*. 2025;413:111489. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2025.111489>
14. Тихонова ВВ, Сотникова ТВ, Ерлин ГВ и др. Синтетический генистин – потенциальная активная фармацевтическая субстанция для разработки противолучевых средств. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2024;64(1):21–9. Tikhonova VV, Sotnikova TV, Erlin GV, et al. Synthetic genistein is a potential active pharmaceutical substance for the development of radiation countermeasure agents. *Radiation biology. Radioecology*. 2024;64(1):21–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0869803124010038>
15. Тарумов РА, Гребенюк АН, Башарин ВА и др. Биологические свойства фитоэстрогена генистеина. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2014;(2):55–68. Tarumov RA, Grebenyuk AN, Basharin VA, et al. Biological properties of phytoestrogen genistein (review of publications). *Extreme Medicine*. 2014;(2):55–68 (In Russ.). EDN: [SGFWSZ](#)
16. Huang R, Han J, Wang R, et al. Surfactant-free solid dispersion of BCS class IV drug in an amorphous chitosan oligosaccharide matrix for concomitant dissolution *in vitro* – Permeability increase. *Eur J Pharm Sci*. 2019;130:147–55. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.01.031>
17. Дударев ВГ, Раевский ВМ, Стрелова ОЮ и др. Совершенствование химического синтеза изофлавона генистеина. *Химия растительного сырья*. 2025;(1):139–45. Dudarev VG, Raevskij VM, Strelova OYu, et al. Improvement of chemical synthesis of genistein isoflavone. *Chemistry of Plant Raw Material*. 2025;(1):139–45 (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250115148>
18. Стрелова ОЮ, Волкова КВ, Теслов ЛС и др. Оценка показателей качества перспективной фармацевтической субстанции на основе синтетического генистеина. *Бутлеровские сообщения*. 2016;48(12):94–101. Strelova OYu, Volkova KV, Teslov LS, et al. Evaluation of quality indicators of promising pharmaceutical substance based on synthetic genistein. *Butlerov Communications*. 2016;48(12):94–101 (In Russ.). EDN: [XIOUTD](#)
19. Жигалина АА, Стрелова ОЮ, Гребенюк АН. Разработка методики количественного определения генистеина для аттестации стандартного образца. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):202–8.

Данная методика предназначена для идентификации и количественного определения генистеина и будет предложена для включения в проект фармакопейной статьи «Генистеин». Методика также может быть применима для анализа генистеина при разработке технологии получения его растворимых форм, при проведении теста «Растворение» и исследований сравнительной кинетики растворения растворимых лекарственных форм препарата.

- Zhigalina AA, Strelova OYu, Grebenyuk AN. Development of a method for the quantitative determination of genistein for the certification of a certified reference material. *Drug Development & Registration.* 2022;11(4):202–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-202-208>
20. Стасенко ЕС, Штарберг МА, Бородин ЕА. Содержание изофлавоноидов в сое и пищевых продуктах с ее использованием. *Техника и технология пищевых производств.* 2022;52(2):222–32. Stasenko ES, Shtarberg MA, Borodin EA. Isoflavonoids in soy and soy-containing foods. *Food Processing: Techniques and Technology.* 2022;52(2):222–32 (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-2-2359>
21. Кочетова МВ, Семенистая ЕН, Ларionов ОГ и др. Определение биологически активных фенолов и полифенолов в различных объектах методами хроматографии. *Успехи химии.* 2007;76(1):88–100. EDN: [HVEPON](#) Kochetova MV, Semenistaya EN, Larionov OG, et al. Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatographic techniques. *Russian Chemical Review.* 2007;76(1):79–90. <https://doi.org/10.1070/rc2007v076n01abeh003632>
22. Нгуен ТШ, Алексеева ГМ, Генералова ЮЭ. Определение содержания изофлавонов в сухом экстракте травы клевера лугового методом ВЭЖХ. *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств.* 2020;1(1):48–53. Nguen TSh, Alekseeva GM, Generalova YuE. Determination of isoflavone content by HPLC in dried extract of *Trifolium pratense* L. *Journal of Pharmaceuticals Quality Assurance Issue.* 2020;1(1):48–53 (In Russ.). [https://doi.org/10.34907/JPQAI.2020.60\\_61\\_006](https://doi.org/10.34907/JPQAI.2020.60_61_006)
23. Волкова КВ, Стрелова ОЮ, Гребенюк АН. Сравнительная характеристика физико-химических свойств синтетического и природного генистеина. В кн.: *Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине.* М.; 2016. С. 455–8. Volkova KV, Strelova OYu, Grebenyuk AN. Comparative analysis of physicochemical properties of synthetic and natural genistein. In: *Biological features of medicinal and aromatic plants and their role in medicine.* Moscow; 2016. P. 455–8 (In Russ.). EDN: [WEHBHN](#)
24. Шишкина ЛН, Козлов МВ, Константинова ТВ и др. Структурные группы природных фосфолипидов, участвующие в образовании комплексов с флавоноидами. *Химическая физика.* 2023;42(1):28–34. <https://doi.org/10.31857/S0207401X23010107> Shishkina LN, Kozlov MV, Konstantinova TV, et al. Structural groups of natural phospholipids taking part in complexation with flavonoids. *Russ J Phys Chem B.* 2023;17:141–7. <https://doi.org/10.1134/S1990793123010104>

**Дополнительная информация.** Таблицы 2–4 размещены на сайте журнала «Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств».

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-6-664-671-annex>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: *Л.Д. Игнатова* – разработка и валидация методики ВЭЖХ-ДМД, проведение статистической обработки данных, написание текста рукописи; *О.Ю. Стрелова* – разработка методики эксперимента; *В.В. Тихонова* – написание текста рукописи. Все авторы приняли участие в обсуждении результатов и написании статьи.

**Additional information.** Tables 2–4 are published on the website of *Regulatory Research and Medicine Evaluation.*

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-6-664-671-annex>

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Lada D. Ignatova* developed and validated HPLC method, processed statistical data, and drafted the manuscript. *Olga Yu. Strelova* designed and developed the experiment. *Viktoria V. Tihonova* drafted the manuscript. All the authors participated in the discussion of the results and manuscript drafting.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Игнатова Лада Дмитриевна / Lada D. Ignatova**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-7366-6165>

**Тихонова Виктория Владленовна, канд. фарм. наук / Viktoria V. Tihonova, Cand. Sci. (Pharm.)**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1184-6453>

**Стрелова Ольга Юрьевна, д-р фарм. наук / Olga Yu. Strelova, Dr. Sci. (Pharm.)**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6737-1023>

Поступила 29.06.2025

После доработки 02.09.2025

Принята к публикации 15.10.2025

Received 29 June 2025

Revised 2 September 2025

Accepted 15 October 2025